

# БОЛЕЗНИ ОРГАНОВ КРОВООБРАЩЕНИЯ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ CIRCULATORY DISEASES: BASIC AND CLINICAL ASPECTS

УДК 616-092.18: 612.017.11

## СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ МОНОЦИТОВ – ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ТЯЖЕЛЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

В. Г. МАТВЕЕВА, А. С. ГОЛОВКИН, Е. В. ГРИГОРЬЕВ

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем  
сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Россия*

**Цель.** Оценить особенности динамики субпопуляционного состава моноцитов крови у пациентов с системным воспалительным ответом (СВО) различной степени тяжести, развившимся после операции коронарного шунтирования.

**Материалы и методы.** Ретроспективно все пациенты в зависимости от тяжести течения СВО были распределены в три группы (1-я – неосложненный СВО, 2-я – осложненный СВО с компенсированной полиорганной недостаточностью (ПОН), 3-я – осложненный СВО с декомпенсированной ПОН). СВО подтверждался объективными клиническими и лабораторными признаками, а также наличием гиперцитокинемии. В каждой группе оценивалась динамика трех субпопуляций моноцитов (CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup>) до операции и в 1-е и 7-е сутки после операции с помощью метода проточной лазерной цитофлуориметрии.

**Результаты.** В 1-е сутки после операции у пациентов всех групп происходила активация моноцитов с перераспределением их субпопуляционного состава за счет уменьшения относительного содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и увеличения CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. При этом у пациентов 3-й группы (СВО с развившейся в дальнейшем декомпенсированной ПОН) содержание моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> было ниже, а CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> – выше, чем других групп. Зарегистрирована корреляционная связь оценки по шкале SOFA и относительным содержанием моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> в крови.

**Заключение.** В 1-е сутки после операции коронарного шунтирования относительное содержание моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> может являться диагностическим и прогностическим маркером тяжелой формы СВО и последующего развития декомпенсированной ПОН.

**Ключевые слова:** субпопуляции моноцитов, системный воспалительный ответ, полиорганная недостаточность, прогностический маркер.

## MONOCYTE SUBSETS IS A PREDICTOR OF SEVERE COMPLICATIONS OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE AFTER CORONARY BYPASS SURGERY

V. G. MATVEEVA, A. S. GOLOVKIN, E. V. GRIGORIEV

*Federal State Budgetary Institution Research Institute for Complex Issues  
of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia*

**Purpose.** The study was examining of dynamics blood monocyte subsets from patients with different severity of Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) after coronary bypass surgery.

**Materials and methods.** In retrospect, all of the patients in accordance with severity of the SIRS were divided into three groups (1 – uncomplicated SIRS, 2 – complicated SIRS with compensated Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS), 3 – complicated SIRS with decompensated MODS). SIRS confirmed by objective clinical and laboratory parameters, as well as the presence of hypercytokinemia. Each group was estimated dynamics of monocyte subsets (CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup>) by laser flow cytometer before surgery and 1st and 7th day after surgery.

**Results.** On the first day after surgery patients of the all groups was detected the activation of monocytes with the redistribution of their subpopulation composition (decrease in the relative content subset of CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> and increase in CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>). At the same time, patients of the third group (SIRS with developed in the future decompensated MODS) subset CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> was lower and CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> was higher than in the other groups. Found correlation of the SOFA estimates and the relative proportions blood monocytes CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> and CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>.

**Conclusion.** In the first days after coronary bypass surgery relative proportion subsets CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> and CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> may be diagnostic and prognostic markers of the severe SIRS and developed in the future decompensated MODS.

**Key words:** monocyte subsets, Systemic Inflammatory Response Syndrome, Multiple Organ Dysfunction Syndrome, prognostic marker.

### Введение

Системный воспалительный ответ (СВО) является основной причиной гибели пациентов отделений интенсивной терапии [2]. Наиболее тяжелым осложнением СВО является прогрессирующая полиорганная недостаточность (ПОН) с летальностью более 50 % [4]. Операции на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения (ИК) нередко приводят к развитию системного воспалительного ответа различной степени тяжести (СВО).

В последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в понимании патофизиологических процессов в организме во время критических состояний, однако до сих пор не сформированы четкие критерии СВО. Четыре критерия (температура тела – более 38 °C или менее 36 °C, частота сердечных сокращений – более 90 уд/мин; частота дыхания – более 20 в мин; уровень лейкоцитов крови – более  $12 \times 10^9/\text{л}$  или менее  $4 \times 10^9/\text{л}$  и содержание молодых форм гранулоцитов – более 10 %), принятые согласительной комиссией Американского колледжа пульмонологов и Общества критической медицины [8], не достаточны для оценки СВО у кардиохирургических пациентов в послеоперационном периоде. С проблемой низкой чувствительности и специфичности данных критериев в оценке критических состояний сталкиваются специалисты не только в области кардиохирургии [1, 2].

Предпринимаются попытки создания мобильных интегральных критериев развития и прогноза критических осложнений системного воспаления [3] с учетом основных звеньев патогенеза [1]. Гиперцитокинемия является важным патогенетическим звеном СВО, поэтому в основу предложенной шкалы уровня реактивности положена количественная оценка содержания цитокинов (IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-10) в крови. СВО является мультисиндромным, фазоспецифичным патологическим процессом, поэтому для диагностики его различных фаз необходимо учитывать особенности динамики основных показателей и использовать дополнительные критерии оценки [2]. Описаны различные варианты взаимодействия факторов системной альтерации и воспалительной резистентности, которые оказывают серьезное влияние на течение СВО, поскольку определяют скорость и этапность развития программы системного воспаления [2]. К формированию СВО может приводить целый ряд заболеваний и состояний, связанных и не связанных с септическими процессами, что также имеет свои особенности.

В связи со сложностью и многоликостью проявлений СВО продолжается активный поиск универсальных (не связанных с этиологией процесса) критериев для оценки тяжести и прогнозирования осложнений.

Последние научные исследования показывают, что иммунная система участвует в восстановлении постоянства внутренней среды при воздействии любых повреждающих факторов, в том числе неинфекционных. Такими факторами могут являться механическая травма, ишемические и реперфузионные повреждения тканей, различные ожоги, ультрафиолетовое излучение и т. д. [16]. Врожденной иммунной системе определено ведущее значение как в реализации местной воспалительной реакции, так и формировании системной воспалительной реакции.

Основными цитокинпродуцирующими клетками врожденной иммунной системы являются моноциты, популяция которых неоднородна. В 2010 г. принята номенклатура, согласно которой рекомендуется выделять три субпопуляции моноцитов крови человека: классическую CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, промежуточную CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>, неклассическую CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup> [14]. На сегодняшний день имеется небольшое количество исследований, проведенных с соблюдением номенклатуры, посвященных изучению функциональных и фенотипических особенностей субпопуляций моноцитов, однако полученные результаты свидетельствуют об их уникальных свойствах [11, 13, 14]. Субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> остается недостаточно изученной, поскольку в большинстве клинических и экспериментальных исследований, проведенных до принятия номенклатуры, эти клетки либо игнорировались, либо анализировались совместно с неклассическими CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>++</sup> моноцитами [18, 19]. Тем не менее имеются указания на участие субпопуляции CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>, объединяющей в себе две субпопуляции – промежуточную и неклассическую, в патогенезе ряда заболеваний, связанных с системным воспалительным процессом различной этиологии (сепсис, ревматоидный артрит, болезнь Кавасаки, СПИД, острый панкреатит и т. д.) [19]. Следует отметить универсальный характер реагирования субпопуляций моноцитов на септический и стерильный СВО. Требуется дальнейшее уточнение роли различных субпопуляций в формировании СВО и его осложнений, при этом необходимо учитывать наиболее слабую изученность СВО неинфекционной этиологии. У пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования в условиях ИК, ранний послеоперационный период сопровождается проявлениями

системного воспалительного ответа (СВО) различной степени тяжести, который в большинстве случаев не имеет связи с инфекцией [10].

**Цель.** Изучить особенности динамики субпопуляционного состава моноцитов крови у пациентов с СВО различной степени тяжести после операции коронарного шунтирования.

### Материалы и методы

Проведено обследование 69 пациентов (50 мужчин, 19 женщин, средний возраст – 62 года (55–67 лет), направленных в ФГБУ «НИИ КПССЗ» СО РАМН в период с мая 2011 г. по март 2012 г. с диагнозом: «ишемическая болезнь сердца (ИБС), стенокардия II–III функционального класса (ФК), хроническая сердечная недостаточность (ХСН) I–IIА и исходной фракцией выброса левого желудочка менее 45 %». Всем пациентам в плановом порядке выполнена операция коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения (ИК). У обследованных лиц было получено добровольное информированное согласие на проведение необходимых для исследования манипуляций.

Критериями исключения явились: сочетанная патология коронарных сосудов и клапанов сердца, острая инфекция и обострение хронической инфекции, наличие злокачественных новообразований, хирургические осложнения во время операции и в послеоперационном периоде.

Операция коронарного шунтирования выполнена в условиях нормотермического ИК. Время ИК составило 96 мин (80–112,5 мин), время пережатия аорты – 61 мин (53–70 мин). Количество шунтируемых артерий – от 2 до 3. У пациентов отсутствовали объективные клинические и лабораторные признаки инфекции, что позволило считать стерильным СВО, развившийся в раннем послеоперационном периоде. Ретроспективно все

пациенты в зависимости от варианта течения раннего послеоперационного периода были разделены на три группы (табл. 1).

В основу распределения по группам положена описательная классификация недостаточности важнейших органов и систем с учетом четырех степеней функциональных нарушений, предложенная В. В. Чаленко [5]. Дополнительно введены объективные критерии и шкалы. Для объективной оценки исходной тяжести состояния пациентов и риска оперативного вмешательства применялись шкалы APACHE II и POSSUM. Тяжесть СВО определялась по критериям Bone в модификации Levy. Динамичная оценка выраженности органной недостаточности в периоперационном периоде проводилась с использованием интегральной шкалы SOFA. Таким образом, в зависимости от особенностей течения СВО в раннем послеоперационном периоде, все пациенты были распределены в три группы: 1-я – неосложненный СВО, 2-я – осложненный СВО с компенсированной ПОН, 3-я – осложненный СВО с декомпенсированной ПОН.

Проведен сравнительный анализ сформированных групп по возрасту, полу, особенностям течения ИБС и основным параметрам ИК. Группы были сопоставимы по всем показателям, кроме возраста. В 3-й группе возраст пациентов оказался старше (69 лет (65–74),  $p < 0,05$ ) по сравнению с остальными (1-я группа – 59 (55–65), 2-я группа – 62 (54–68)).

Материалом для исследования служила кровь из периферической вены, взятая до операции и после операции (через 18–20 ч и через 7 сут) в две различные пробирки: с антикоагулянтом КЗЭДТА и активатором свертывания (тромбин) для получения сыворотки. Сыворотка отделялась от форменных элементов крови не позднее 2 ч после забора центрифугированием. До исследования образцы хранились при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Таблица 1

Схема распределения пациентов по группам

Критерии	1-я группа – неосложненный СВО	2-я группа – СВО с компенсированной ПОН	3-я группа – СВО с декомпенсированной ПОН
SOFA, балл	0	1–3	4 и более
APACHE II	0–5	6–11	12 и более
POSSUM	5, риск летальности 1,2 %	10, риск летальности 4,9 %	20, риск летальности 24,9 %
Количество критериев СВО	0–2	2	2–4
Баланс жидкости	–	+	+++
Потребность в норадреналине	–	+	+++
Сатурация $\text{O}_2$ в нижней полой вене	70 (68–79) %	65 (60–67) %	60 (58–67) %

В течение 4 ч с момента забора крови с антикоагулянтном выполняли процедуру окрашивания клеток для дальнейшего исследования на проточном лазерном цитофлюориметре.

Для определения концентрации цитокинов в сыворотке крови использовали готовые тест-системы фирмы eBioscience (HumanTNF- $\alpha$  HighSensitivity-ELISA, HumanIL-6 PlatinumELISA, HumanIL-10 PlatinumELISA). Постановку ИФА проводили в соответствии с инструкцией, предлагаемой производителем тест-систем. Считывание результатов и расчет концентрации исследуемых показателей выполнялись по калибровочным пробам на полуавтоматическом анализаторе «Униплан» (Россия).

Изучение субпопуляций моноцитов в периферической крови пациентов проводили при помощи трехцветной комбинации конъюгированных моноклональных антител к CD16-FITC (IQTest, IsotypeIgG1), CD45-PC5 (IQTest, IsotypeIgG1), CD14-APC (IQTest, IsotypeIgG2 $\alpha$ , BeckmanCoulter, USA). Для окрашивания использовали кровь с КЗЭДТА. Для окраски клеток в каждую пробу вносили указанный в инструкции объем моноклональных антител и инкубировали в течение 30 мин. Затем проводили лизирование эритроцитов с последующим двукратным отмыванием избытком фосфатно-солевого буфера (PBSpH=7,2 (Gibco, Invitrogen). Полученный осадок ресуспендировали в PBS. Цитофлуориметрический анализ проводили на проточном лазерном цитометре FACSCaliburBD в программе CellQuestPro с использованием единых настроек прибора для всех образцов.

#### *Способ разделения моноцитов крови на субпопуляции*

Для исключения дебриса порог чувствительности устанавливали по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию, а также по SSC и CD45.

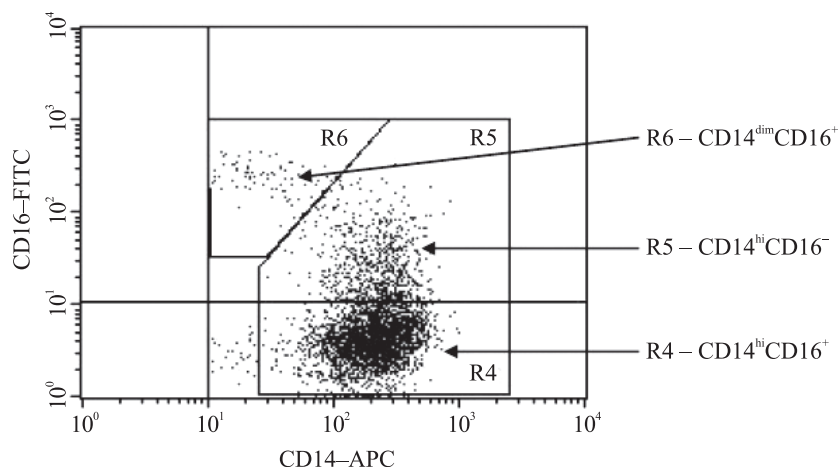
Популяцию моноцитов гейтировали по совокупному включению клеток в моноцитарные регионы на гистограммах FSC/SSC, SSC/CD45 и SSC/CD14. В каждом образце анализировалось не менее 3 тыс. гейтированных моноцитов. По уровню экспрессии рецепторов CD14 и CD16 моноциты были разделены на три субпопуляции – CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> (рис.).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0. Парное сравнение связанных показателей выполнено с использованием критерия Вилкоксона (Wilcoxon). Для проверки гипотезы о значимости межгрупповых различий исследуемых признаков был применен критерий Манна – Уитни (U-тест). Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ . Установление корреляционных связей выполнено с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (Spearman). Данные представлены в виде медианы (Me), 25 и 75 % квартилей (Q1–Q3) выборки показателей.

#### **Результаты**

Гиперцитокинемия свидетельствует о генерализации воспалительного процесса и его переходе на системный уровень, при этом выраженность гиперцитокинемии можно рассматривать как универсальный показатель тяжести СВО (без учета этиологии процесса) [2, 6, 9].

В первые сутки после операции во всех группах наблюдалось многократное (более чем в 20 раз) повышение содержания IL-6 по сравнению с дооперационными значениями (табл. 2). К седьмым суткам после операции концентрация IL-6 в крови снижалась относительно показателей первых суток, однако оставалась выше дооперационных. Сравнение между группами показало, что в первые сутки после операции в крови пациентов



**Рис. Разделение моноцитов на субпопуляции по интенсивности флуоресценции рецепторов CD14 и CD16**

3-й группы с развившейся в дальнейшем декомпенсированной ПОН содержание IL-6 было выше, чем у пациентов 2-й группы с компенсированной формой ПОН.

В послеоперационном периоде не зарегистрировано достоверных изменений концентрации TNFα в сыворотке крови, хотя отмечалась тенденция к повышению в первые сутки после операции (табл. 2). Сравнение этих показателей между группами пациентов также не выявило достовер-

ных различий на протяжении всего периода наблюдения.

В первые сутки после операции происходило повышение содержания в крови IL-10 относительно исходных дооперационных значений (табл. 2). В 3-й группе пациентов уровень этого цитокина достоверно превышал одноименные показатели других групп. Через неделю после операции содержание IL-10 в крови всех групп пациентов не отличалось от дооперационных значений.

Таблица 2

Динамика уровня цитокинов в крови различных групп пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования (Ме (Q1–Q3))						
Группа	До операции	P <sub>I-II</sub>	1-е сутки после операции	P <sub>II-III</sub>	7-е сутки после операции	P <sub>I-III</sub>
	I		II		III	
IL-6 (пг/мл)						
1 (n=31)	1,7 (0,52–2,36)	<0,0001	38,62 (18,26–125,02)	<0,0001	3,94 (0,8–8,66)	0,0001
2 (n=30)	1,55 (0,57–2,15)	0,0001	29,06 (18,33–63,05)	0,0002	4,75 (1,7–8,43)	0,005
3 (n=8)	1,88 (1,58–2,35)	0,0117	78,5 <sup>##</sup> (49,8–126,2)	0,0277	9 (4,3–14,32)	0,0277
TNFα (пг/мл)						
1	0,234 (0,210–0,287)	0,0033	0,278 (0,255–0,366)	0,0043	0,244 (0,222–0,275)	0,9063
2	0,25 (0,238–0,272)	0,0843	0,271 (0,249–0,326)	0,0995	0,252 (0,238–0,27)	0,9375
3	0,281 (0,265–0,308)	0,0679	0,315 (0,283–0,394)	0,0679	0,256 (0,255–0,303)	0,4652
IL-10 (пг/мл)						
1	3,17 (2,50–4,25)	<0,0001	11,20 (6,42–55,88)	<0,0001	3,60 (2,70–4,67)	0,1808
2	3,84 (2,63–5,41)	<0,0001	8,78 (5,3–30,8)	<0,0001	4,22 (3,10–4,99)	0,6272
3	4,39 (2,15–5,72)	0,0117	72,15 <sup>***</sup> (13,93–95,61)	0,0277	4,59 (3,80–5,71)	0,051

<sup>##</sup> p=0,035 по сравнению со 2-й группой пациентов; \* p=0,049 по сравнению со 1-й группой пациентов; \*\* p=0,013 по сравнению со 2-й группой пациентов.

Таблица 3

Динамика субпопуляций моноцитов в крови различных групп пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования (Ме (Q1–Q3))						
Группа	До операции	P <sub>I-II</sub>	1-е сутки после операции	P <sub>II-III</sub>	7-е сутки после операции	P <sub>I-III</sub>
	I		II		III	
CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>-</sup>						
1 (n=31)	85,8 (80,1–90,5)	<0,0001	76,3 (73,3–80,8)	0,0003	85,3 (78–91,5)	0,581
2 (n=29)	84,8 (80,1–88,8)	0,0169	78,3 (73,5–85,9)	0,0080	83,8 (81–88,3)	0,527
3 (n=4)	77,2 (69,3–85,5), n=4	0,068	67,3*** (60,7–68,7), n=4	–	80,2 (76,5–83,9), n=2	–
CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>+</sup>						
1	4,7 (3,8–11,7)	<0,0001	18,1 (13,9–23,3)	<0,0001	5,8 (4,4–13,4)	0,052
2	6,3 (4,2–9,3)	<0,0001	18,5 (11,4–23,8)	0,0002	9,4 (5,9–11,2)	0,0214
3	9,2 (8,1–13,6)	0,0680	29 #### (26,3–30,9)	–	11,4 (8,9–13,9)	–
CD14 <sup>dim</sup> CD16 <sup>+</sup>						
1	5,3 (3,6–8,1)	<0,0001	2,3 (1,5–3,7)	<0,0001	3,9 (2,5–6)	0,0930
2	5,4 (4,2–10,3)	<0,0001	2,4 (2–3,6)	0,0010	4,5 (2,8–7,8)	0,0068
3	10,5 (5,5–16,7)	0,069	2,7 (2,0–7,0)	–	6,9 (4,3–9,5)	–

\* p=0,007 по сравнению с 1-й группой пациентов; \*\* p=0,0081 по сравнению со 2-й группой пациентов; # p=0,0095 по сравнению с 1-й группой пациентов; ### p=0,0177 по сравнению со 2-й группой пациентов.



Далее исследовалась динамика относительно-го содержания субпопуляций моноцитов в крови пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования.

В первые сутки после операции у пациентов наблюдалось снижение относительного содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> в крови по сравнению с дооперационным уровнем (группа 1 и 2), (табл. 3). Через неделю после операции их количество повышалось относительно соответствующих показателей первых послеоперационных суток и достоверно не отличалось от дооперационных значений. Сравнение одноименных показателей в группах пациентов показало, что в первые сутки после операции относительное содержание моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> у пациентов 3-й группы с развившейся в дальнейшем декомпенсированной ПОН было ниже, чем у пациентов 1-й и 2-й групп.

В раннем послеоперационном периоде происходило многократное повышение относительного содержания моноцитов с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> по сравнению с показателями до операции (табл. 3), при этом у пациентов 3-й группы относительное количество моноцитов с фенотипом CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> было выше, чем в других группах. К седьмым суткам после операции у всех пациентов происходило снижение содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> (достоверно в 1-й и 2-й группах) по сравнению с первыми сутками.

Менее выраженные количественные изменения затронули субпопуляцию CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>. Ее относительное содержание в первые сутки после операции снижалось по сравнению с дооперационным периодом, но к седьмым суткам вновь увеличивалось. Однако такая динамика не сопровождалась изменением их абсолютного содержания в крови (не вошедшие в статью данные), что, с одной стороны, указывает на их преимущественную локализацию на поверхности эндотелия (минимальные количественные изменения в крови), с другой – свидетельствует о том, что перераспределение субпопуляций формируется в основном моноцитами CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>.

В раннем послеоперационном периоде у пациентов с осложненным течением СВО в форме декомпенсированной ПОН зарегистрированы наиболее выраженные разнонаправленные изменения субпопуляций CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>. Для выявления возможных связей между степенью органной недостаточности, обусловленной СВО, и изменением субпопуляционного состава моноцитов проведен корреляционный анализ.

Результаты корреляционного анализа между оценкой по шкале SOFA и субпопуляционным

составом моноцитов в первые сутки после операции представлены в таблице 4. Обнаружена отрицательная корреляционная связь между оценкой по шкале SOFA и относительным содержанием моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> в крови пациентов в первые послеоперационные сутки и слабая положительная с субпопуляцией CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>, при этом коэффициент корреляции (r) имел зеркальные значения (+0,25 и -0,25).

Таблица 4

**Значения коэффициента корреляции между оценкой по шкале SOFA и относительным содержанием субпопуляций моноцитов в крови**

Субпопуляции (%)	SOFA (баллы)
CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>-</sup>	r=-0,25 (p=0,046)
CD14 <sup>hi</sup> CD16 <sup>+</sup>	r=+0,25 (p=0,044)
CD14 <sup>dim</sup> CD16 <sup>+</sup>	r=+0,14 (p=0,283)

### Обсуждение

Имеющиеся объективные лабораторные и клинические показатели, а также зарегистрированная гиперцитокинемия подтверждают наличие у обследованных пациентов в раннем послеоперационном периоде СВО различной степени тяжести.

Многократное повышение сывороточной концентрации IL-6 и IL-10 в раннем послеоперационном периоде указывает на их высокую значимость и чувствительность при регистрации гиперцитокинемии у пациентов с СВО после операции КШ. Основная причина незначительного повышения содержания TNFα в крови пациентов в первые сутки после КШ связана с коротким периодом полураспада этих цитокинов [15] при уровне синтеза, близком к скорости распада, что снижает возможность его накопления. Поэтому уровень TNFα в крови является динамичным показателем, но ввиду особенностей синтеза у данной категории пациентов имеет ограниченную диагностическую ценность.

Увеличение содержания IL-6, TNFα и IL-10 в крови косвенно свидетельствует об активации клеток моноцитарно-макрофагального звена врожденного иммунитета, поскольку они являются основными источниками этих цитокинов [7]. Моноциты составляют 5–10 % от общего количества лейкоцитов крови человека и выполняют ряд важных функций в запуске, поддержании и контроле иммунного ответа. Как уже указывалось ранее, среди моноцитов выделяют три субпопуляции, обладающие различными свойствами.

Классическая субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> характеризуется выраженной фагоцитарной и ми-

кrobiцидной активностью. При стимуляции эти клетки отличаются активным синтезом хемокины и умеренной продукцией провоспалительных цитокинов [11].

Субпопуляция CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> обладает яркими провоспалительными свойствами. По сравнению с другими субпопуляциями моноциты CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> характеризуются мощной продукцией TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 в ответ на стимуляцию бактериальными патогенами и выраженной способностью к активации CD4 T-клеток [13]. При этом они проявляют умеренную фагоцитарную активность, ограниченную способность к респираторному «взрыву» и синтезу хемокинов [11].

В раннем послеоперационном периоде коронарного шунтирования происходило перераспределение субпопуляций моноцитов за счет увеличения содержания CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и почти пропорционального снижения CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, что, предположительно, является результатом дифференцировки субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> в CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. Возможность дифференцировки доказывается рядом исследований, в которых часть активированных моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> меняла не только свой фенотип на CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>, но и приобретала провоспалительные свойства [12, 17, 18]. Тяжелые осложненные варианты СВО сопровождались более высоким содержанием в крови провоспалительной субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>, что может свидетельствовать о заинтересованности этих клеток в развитии СВО и формировании его осложнений. С данным положением согласуются установленные корреляционные связи между выраженностью перераспределения субпопуляций и оценкой по шкале SOFA как показателя тяжести ПОН. При этом наличие слабых корреляционных связей указывает на одновременное влияние других факторов в развитии и прогрессировании ПОН.

В раннем послеоперационном периоде в условиях активации механизмов первой линии защиты наибольшее значение приобретает цитокиновая стимуляция иммунокомпетентных клеток [7], в результате в периферической крови повышается содержание моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> с преимущественной продукцией провоспалительных цитокинов. В случае перехода защитной воспалительной реакции организма в неконтролируемую патологическую форму повышается относительное содержание провоспалительной субпопуляции моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup>. По нашим данным, повышение в циркулирующей крови относительного содержания моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> более 26,3 % и снижение CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> менее 68,7 % в первые сутки после операции коронарного шунтирования

является неблагоприятным прогностическим признаком дальнейшего развития декомпенсированной ПОН.

Представляется перспективным дальнейшее изучение динамики субпопуляций моноцитов в качестве диагностического и прогностического маркера тяжести органических дисфункций, обусловленных СВО различной этиологии.

### Заключение

Операция коронарного шунтирования приводит к активации моноцитарно-макрофагального звена врожденного иммунитета, о чем свидетельствует повышение в сыворотке крови концентрации цитокинов (IL-6, IL-10). На ранних этапах формирования СВО у пациентов после операции коронарного шунтирования происходит увеличение содержания субпопуляции CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и уменьшение CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>, при этом выраженность перераспределения субпопуляций коррелирует с тяжестью течения СВО и будущих осложнений (полиорганная недостаточность).

Таким образом, относительное содержание моноцитов CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>+</sup> и CD14<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup> в периферической крови пациентов в первые сутки после операции коронарного шунтирования может являться диагностическим и прогностическим маркером тяжелой формы СВО и последующего развития декомпенсированной ПОН.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Варианты развития острого системного воспаления / Е. Ю. Гусев [и др.] // Цитокины и воспаление. 2008. Т. 7, № 2. С. 9–17.
2. Гусев Е. Ю., Черешнев В. А., Юрченко Л. Н. Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6, № 4. С. 9–21.
3. Методология изучения системного воспаления / Е. Ю. Гусев [и др.] // Цитокины и воспаление. 2008. Т. 7, № 1. С. 15–23.
4. Синдром полиорганной недостаточности у больных после операций в условиях искусственного кровообращения / М. А. Бабаев [и др.] // Хирургия. 2013. № 2. С. 119–123.
5. Чаленко В. В. Классификация острых нарушений функций органов и систем при синдроме полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. 1998. № 2. С. 25–30.
6. Черешнев В. А., Гусев Е. Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 1–2. С. 9–20.
7. Яршин А. А. Иммунология. М. ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с
8. Bone R. C., Sibbald W. J., Sprung C. L. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure // Chest. 1992. Vol. 101, № 6. P. 1481–1483.

9. Evidence of systemic cytokine release in patients undergoing cardiopulmonary bypass / J. Halter [et al.] // J. Extra Corpor. Technol. 2005. Vol. 37, № 3. P. 272–277.
10. Hirai S. Systemic Inflammatory Response Syndrome after Cardiac Surgery under Cardiopulmonary Bypass // Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2003. Vol. 9(6). P. 365–370.
11. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors / J. Cros. [et al.] // Immunity 2010. Vol. 33, № 3. P. 375–386.
12. Immature monocytes acquire antigens from other cells in the bone marrow and present them to T cells after maturing in the periphery / F. Tacke [et al.] // J. Exp. Med. 2006. Vol. 203, № 3. P. 583–597.
13. Monocyte heterogeneity in human cardiovascular disease / A. M. Zawada [et al.] // Immunobiology. 2012. Vol. 217, № 12. P. 1273–1284.
14. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood / L. Ziegler-Heitbrock [et al.] // Blood. 2010. Vol. 116 (16). P. 74–80.
15. Perioperative serum levels of tumour-necrosis-factor alpha (TNF-alpha), IL-1 beta, IL-6, IL-10 and soluble IL-2 receptor in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass without and with correction for haemodilution / A. Roth-Isigkeit [et al.] // Clin. Exp. Immunol. 1999. Vol. 118, № 2. P. 242–246.
16. Piccinini A. M., Midwood K. S. DAM Pening inflammation by modulating TLR signaling // Mediators of Inflammation. 2010. – pii : 672395.
17. Regulation of Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 on CD14<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes in response to sepsis-related antigens / N. A. Skinner [et al.] // Clin. Exp. Immunol. 2005. Vol. 141(2). P. 270–278.
18. Senescent CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> Monocytes Exhibit Proinflammatory and Proatherosclerotic Activity / A Merino [et al.] // J. Immunol. 2010. Vol. 186. P. 1809–1815.
19. Ziegler-Heitbrock L. The CD14<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> blood monocytes: their role in infection and inflammation // J. Leukocyte. Biology. 2007. Vol. 81, issue 3. P. 584–592.

Статья поступила 13.10.2014

Ответственный автор за переписку:

кандидат медицинских наук  
**Матвеева Вера Геннадьевна**,  
 старший научный сотрудник  
 лаборатории клеточных технологий  
 отдела экспериментальной и клинической  
 кардиологии НИИ КПССЗ

Адрес для переписки:

В. Г. Матвеева, 650002, г. Кемерово,  
 Сосновый бульвар, д. 6  
 Тел.: +7 (3842) 64-41-56  
 E-mail: matveeva\_vg@mail.ru

Corresponding author:

PhD  
**Vera G. Matveeva**,  
 senior research associate  
 of cellular technologies laboratory  
 of experimental and clinical cardiology  
 department of NII KPSSZ

Correspondence address:

V. G. Matveeva, 6, Sosnoviy blvd.,  
 Kemerovo, 650002  
 Tel.: +7 (3842) 64-41-56  
 E-mail: matveeva\_vg@mail.ru